

Trabajo Práctico Nº 15 Germinación

Introducción:

La germinación de la semilla se define técnicamente como la aparición y desarrollo, a partir del embrión, de aquellas estructuras esenciales que van a dar origen a plantas formales, en condiciones favorables.

El proceso de germinación se puede dividir en 4 etapas (Figura 1 y 2):

- 1) **imbibición** o absorción de agua por la semilla,
- 2) **activación y síntesis** de enzimas hidrolíticas,
- 3) **división y alargamiento celular** y
- 4) presión de la radícula (o plúmula) sobre el tegumento y **emergencia** a través de éste.

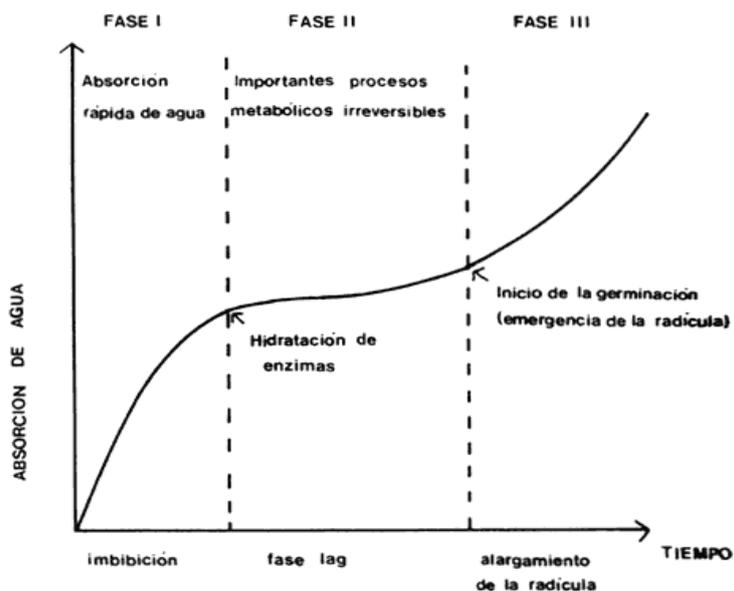
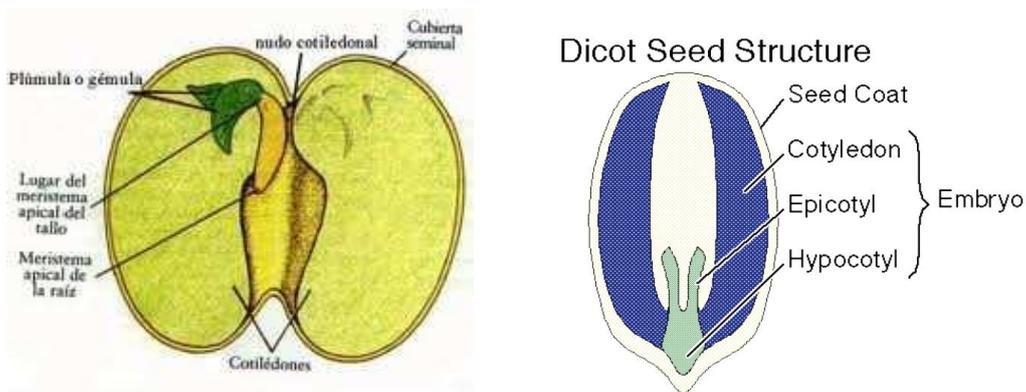


Figura 1 y 2: Semilla y proceso de germinación

El proceso de germinación, en cuanto a su ocurrencia y destino, es dependiente de determinados factores externos como: agua, temperatura (valores promedios y alternancias de bajas y altas temperaturas), gases (O_2 , CO_2 , etileno), luz, compuestos minerales, compuestos químicos presentes en el suelo, etc. Cuando uno o más de estos factores ecológicos no son apropiados para las semillas, a pesar de ser éstas perfectamente viables, las semillas no germinan y se dice entonces que se encuentran en un estado de quiescencia.

Cuando la semilla no germina, a pesar de ser viable y exponerse a condiciones ecológicas apropiadas, se dice que se halla en estado de **dormición**, fenómeno que representa la ausencia total de crecimiento y es análogo al de otros propágulos como yemas, tallos, tubérculos, etc. En este caso, diversos factores endógenos, propios de la semilla, ocasionan la inhibición de la germinación de las mismas.

La dormición de las semillas comúnmente puede deberse a factores del siguiente tipo:

1. **Dormición impuesta por los tegumentos (de origen físico):** En estos casos las coberturas seminales interfieren en el proceso de germinación por varios mecanismos. Pueden impedir la absorción de agua (en el caso de semillas de las familias de Leguminosas, Cannaceas, Convolvuláceas, Liliáceas, Solanáceas, Malváceas), por poseer coberturas impermeables por la presencia de ceras, suberina, sustancias grasas, mucílago, etc. También las coberturas pueden impedir el intercambio gaseoso, restringiendo la entrada de O_2 o la salida de CO_2 (*Cucurbita pepo*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Pyrus malus*).

En algunos casos la cubierta seminal puede poseer inhibidores de la germinación, de naturaleza química variada, como se explicará más abajo. Por último la cubierta puede presentar resistencia mecánica a la germinación, al oponerse a la emergencia de la radícula o la plúmula, debido a su dureza (Achira).

2. **Dormición impuesta por el embrión:** Los mecanismos de control de la dormición por el embrión pueden ser por deficiencias en el eje embrionario, bloqueo a nivel de cotiledones, o sea que al eliminar éstos germinan (el caso de durazneros por la presencia en ellos de ABA), o presencia de inhibidores en el mismo embrión. En algunas especies, los embriones están morfológicamente inmaduros al momento de liberarse la semilla, y por ende, requieren de un período posterior de madurez para estar en condiciones de germinar. En general éstos son pequeños, pobremente diferenciados y deben incrementar 3 a 4 veces su longitud, previo a su germinación (orquídeas, *ginkgo*, algunos cultivares de duraznero).

3. **Semillas fotoblásticas:** En un gran número de especies la dormición concluye cuando las semillas hidratadas son expuestas a la luz blanca, ya sea por lapsos de segundos, radiación intermitente iluminación diaria con un cierto fotoperíodo o con ciertos rangos del espectro. Estas respuestas pueden comprenderse por el control que ejerce el sistema de fitocromos. Este sistema

fotoreceptor interviene en la regulación del crecimiento y también se lo ha denominado "sistema fotomorfogénico". Se lo ha encontrado en algas verdes, rojas y en todos los órganos de las plantas superiores. Interviene en numerosos procesos como:

- ◆ Germinación
- ◆ Control del alargamiento del hipocótilo
- ◆ Control del alargamiento de los entrenudos
- ◆ Expansión de los cotiledones
- ◆ Apertura del gancho plumular
- ◆ Formación de los primordios foliares
- ◆ Crecimiento y forma de las hojas
- ◆ Diferenciación de estomas
- ◆ Formación de elementos xilemáticos
- ◆ Formación de plástidos.
- ◆ Síntesis de clorofilas y antocianinas.
- ◆ Formación de tubérculos
- ◆ Distribución de fotoasimilados
- ◆ Floración, etc.

Los fitocromos son pigmentos azulados, proteicos, con un cromóforo constituido por cuatro anillos pirrólicos presentes en los tejidos vegetales en pequeñísimas cantidades. Tienen la propiedad de percibir el estímulo de la luz de baja energía y determinada longitud de onda (660 nm) pasando a la forma activada de alta energía que solamente absorbe la luz denominada rojo lejano (730nm entre el rojo y el infrarrojo) y, activar genes nucleares (Figura 3). Después de percibido el estímulo durante lapsos muy breves, la semilla puede germinar en la oscuridad.

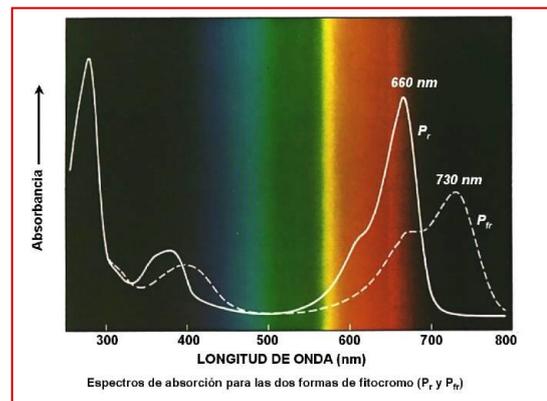
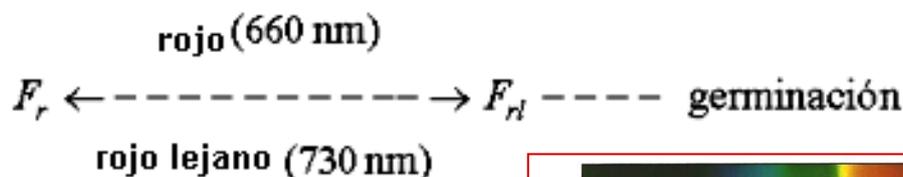


Figura 3: Logitud de onda de los fitocromos.

Las semillas fotoblásticas generalmente poseen escasas sustancias de reserva y para germinar deben ubicarse a poca profundidad para que les llegue la luz y su gancho plumular alcance la superficie del suelo. En estas condiciones la luz incide naturalmente sobre ellas a través de poros o grietas del suelo, y al ser percibida esta luz blanca por la semilla se producen conversiones del fitocromo rojo (Pr) al rojo lejano (Pfr) (1) y del rojo lejano al rojo (2) en la molécula del fitocromo, por la existencia en el espectro de ambas longitudes de onda (660 nm y 730 nm). Dado que la velocidad de la reacción en el sentido (1) es más veloz que en el sentido (2), el equilibrio de la reacción se desplaza hacia la primera, existiendo en un mismo momento más cantidad de la especie activa Pfr que Pr, lo que inicia los pasos metabólicos sucesivos que desencadenan el proceso de germinación. Si por algún motivo estas semillas quedan enterradas más profundamente, en sitios donde la luz no llega, esta conversión no ocurre y por lo tanto no se produce la germinación. Si ocurriera, el vástago no alcanzaría a emerger a la superficie por las escasas reservas que posee. Si por remoción del suelo, natural (erosión eólica, hídrica, pastoreo, etc.) o antrópica (laboreo mecánico), estas semillas alcanzan la cercanía de la superficie, la luz incidirá sobre ellas y germinarán.

El fotoblastismo implica una adaptación interesante en semillas pequeñas con reservas escasas, ya que el mecanismo le asegura a la semilla emerger y dar origen a una nueva planta, dada la necesidad de las mismas de convertirse lo más rápidamente posible en individuos fotótrofos. Son ejemplos de semillas fotoblásticas: lechuga, chamico.

4. Presencia de inhibidores de naturaleza química: (mostaza, alelí, café, peral, paraíso, acelga, plantas de desierto) Estas sustancias pueden inhibir el crecimiento por presión osmótica, acidez o actividad inhibitoria hormonal. Su producción está regulada por las condiciones del medio y se acumulan en diversos órganos, además de las semillas: yemas, tallos, pericarpio, según la especie de que se trate y a veces en más de un órgano a la vez. En la semilla pueden estar presentes en distintos tejidos como el embrión, el endosperma o los tegumentos. Son en su mayoría hidrosolubles y de diversa naturaleza química. Representan formas de adaptación cuya función en la naturaleza parece ser la de evitar que la semilla germine y comience a crecer una nueva planta cuando las condiciones del medio son adversas, lo que determinaría su muerte. Son conocidos como tales el ácido cianhídrico (producido por la hidrólisis de glucósidos cianogénicos), amoníaco (liberado enzimáticamente en algunos frutos), lactonas no saturadas (anemoninas), cumarina (en leguminosas), aldehidos, alcaloides, ftalatos (en umbelíferas), ácidos orgánicos como el acético, málico, cítrico, ferúlico (en tomate).

Entre las sustancias de naturaleza hormonal, el ácido abscísico y el ácido jasmónico son poderosos inhibidores de la germinación, además de serlo del crecimiento, como por ejemplo la brotación de yemas.

Estos inhibidores se pueden eliminar por medios físicos: teniendo en cuenta su hidrosolubilidad, por un lavado en agua corriente de hasta 48 hs. El frío favorece también la eliminación de muchos inhibidores. Una estratificación de arena húmeda a bajas temperaturas (0 a 7°C), es muy efectiva y práctica para favorecer la ruptura de la dormición en semillas de muchas especies, sin los cuales sus semillas no podrían germinar en época favorable. En las plantas de los desiertos este fenómeno es más marcado aún. Por medios químicos se pueden romper ciertos tipos de dormición: existen sustancias que en adecuada concentración son capaces de interrumpir la dormición de algunas especies, por ej.: tiourea, glutatión, cistina, nitrato de potasio, ácido giberélico, etileno, citocininas, etc.

Objetivo:

- Evaluar la incidencia de los distintos factores que causan la dormición de las semillas y la eficacia de los métodos utilizados para eliminarla.

Materiales:

Semillas de :	Germinadores
Prosopis	Bisturí
Poroto	3 tomates enteros
Arroz	Sn ClNa 0,15, 030 y 045 M
<i>Grindelia</i>	Vaso precipitado
<i>Atriplex</i>	Licuada
Lechuga	Papel de lija
Nigelia	SO ₄ H ₂ concentrado
<i>Amsinkia</i>	Colador
	Gasa

Procedimiento:

a) Acción inhibidora

1) Del fruto de *Atriplex* para el desarrollo de las semillas:

Colocar brácteas de *atriplex* (aproximadamente un tercio del volumen del recipiente) en un erlenmeyer de 250 ml y agregar el doble del volumen de agua corriente estéril. Hervir durante 30 minutos, dejar enfriar y filtrar.

Poner 60 semillas de *atriplex* en tres germinadores, distribuidas de la siguiente manera:

- 20 semillas sin brácteas regadas con extracto inhibidor
- 20 semillas sin brácteas regadas con agua
- 20 semillas con brácteas regadas con agua

2) De las semillas de *Grindelia* (pueden ser removidos lavando con agua corriente) Colocar:

20 semillas en un germinador regado con agua (testigo)

20 semillas bajo agua corriente durante 48 hs.

3) *Del fruto de tomate para el desarrollo de las semillas*

Sacar las semillas a tres tomates maduros y colocarlos en una licuadora durante 2 minutos aproximadamente. Filtrar el producto obtenido para separar la pulpa y con el jugo preparar extractos en las siguientes concentraciones: 15%, 30% y 45%. Distribuir 80 semillas de tomate de la siguiente manera:

20 semillas regadas con extracto inhibidor al 15%

20 semillas regadas con extracto inhibidor al 30%

20 semillas regadas con extracto inhibidor al 45%

20 semillas regadas con agua (testigo)

b) **Efecto de tegumentos impermeables:**

Se utilizarán semillas de *Prosopis*, colocando:

20 semillas sometidas previamente a escarificación mecánica (raspado de la superficie con una lija)

20 semillas tratadas previamente con ácido sulfúrico durante 7 minutos y luego enjuagadas varias veces (escarificación química)

20 semillas regadas con agua (testigo).

c) **Efecto de la luz en la germinación:**

Se colocan semillas de Lechuga, *Nigella*, o *Amsinkia* (frutos) en germinadores, sometidas cada una a 2 tratamientos:

20 semillas expuestas a luz blanca durante su germinación

20 semillas sometidas a oscuridad

d) **Concentración de oxígeno:**

En la mayoría de las mesófitas y xerófitas la germinación es favorecida por el oxígeno, puesto que éste es necesario para el metabolismo respiratorio. En el arroz y otras plantas acuáticas como *Typha*, la germinación puede tener lugar bajo el agua, es decir, en ausencia de O₂ o con presiones parciales de O₂ muy bajas. Precisamente, los embriones de arroz disponen de un sistema de respiración muy eficiente que no requiere oxígeno.

Se someten semillas de arroz y poroto a los siguientes tratamientos:

20 semillas en germinador regado con agua (testigo)

20 semillas sumergidas completamente en agua

e) Tolerancia a la salinidad:

La tolerancia a las sales es un carácter poligénico, heredable, que involucra respuestas al estrés iónico y osmótico a nivel celular. La mayor parte de las plantas son más sensibles a la salinidad durante la germinación y emergencia que durante los estadios de crecimiento y desarrollo posteriores. Las sales actúan en forma tóxica antes que como estímulo de la germinación de la semilla. La acción tóxica del catión o del anión puede superar al efecto producido sobre la presión osmótica. Además, al bajar los potenciales hídricos (Ψ) en el suelo, las sales bajan la tasa y la germinación total (Bradford, 1995).

Los efectos de la salinidad varían dependiendo del estadio de crecimiento y de la duración del estrés. En algunas especies, la tolerancia a la salinidad en la germinación es independiente de la tolerancia a la salinidad en la emergencia, crecimiento vegetativo, floración y fructificación.

Preparar germinadores con semillas de Atriplex y tomate, regándolas con soluciones 0,15, 0,3 y 0,45 M de NaCl.

Distribuir las semillas de la siguiente manera:

- 20 semillas de tomate en germinador regado con agua (testigo)
- 20 semillas de tomate en germinador con solución de NaCl 0,15 M
- 20 semillas de tomate en germinador con solución de NaCl 0,30 M
- 20 semillas de tomate en germinador con solución de NaCl 0,45 M
- 20 semillas de atriplex en germinador regado con agua (testigo)
- 20 semillas de atriplex en germinador con solución de NaCl 0,15 M
- 20 semillas de atriplex en germinador con solución de NaCl 0,30 M
- 20 semillas de atriplex en germinador con solución de NaCl 0,45 M

Resultados:

Expresar los resultados en la siguiente tabla:

<i>Tratamiento</i>	<i>% de germinación (días)</i>		<i>Total</i>
	<i>2</i>	<i>7</i>	
<i>Atriplex</i> sin brácteas con inhibidor			
<i>Atriplex</i> sin brácteas con agua			
<i>Atriplex</i> con brácteas			
<i>Grindellia</i> testigo			
<i>Grindellia</i> bajo agua corriente			
<i>Prosopis</i> con escarificación química			
<i>Prosopis</i> con escarificación mecánica			
<i>Prosopis</i> testigo			
<i>Nigelia</i> con luz			
<i>Nigelia</i> sin luz			
Lechuga Sin luz			
Lechuga Con luz			
<i>Amsinkia calycina</i> sin luz			
<i>Amsinkia calycina</i> con luz			
Poroto sumergido en agua			
Poroto testigo			
Arroz sumergido en agua			
Arroz testigo			
Tomate testigo			
Tomate con solución NaCl 0,15 M			
Tomate con solución NaCl 0,30 M			
Tomate con solución NaCl 0,45 M			
<i>Atriplex</i> testigo			
<i>Atriplex</i> con solución NaCl 0,15 M			
<i>Atriplex</i> con solución NaCl 0,30 M			
<i>Atriplex</i> con solución NaCl 0,45 M			

Conclusiones:

Una vez representados y/o graficados los resultados obtenidos expresa las conclusiones acerca de los ensayos realizados.

Bibliografía:

- ✓ Curtis & Barnes, S. 1994- Biología- Ed. Interamericana
- ✓ Guía de Trabajos Prácticos de Fisiología Vegetal. U.N.P.S.J.B. Comodoro Rivadavia.
- ✓ Guía de Trabajos Prácticos de Fisiología General. Univ. Córdoba.
- ✓ Guía de Trabajos Prácticos de Fisiología Vegetal y Fitogeografía. 1997. U.N.L.P.
- ✓ Salisbury, F. B. & Ross, C. W. 1994. Fisiología vegetal-Ed. Interamericana-759 pp.
- ✓ Bazzigalupi, O.; Pistorale, S.; y Andrés, A. 2008.

*******INTERESANTE:**

Científicos australianos buscan genes que confieran tolerancia a salinidad

Según las estadísticas, la producción de alimentos debería duplicarse en 2050 para satisfacer la demanda mundial de la creciente población mundial. “Aún en condiciones ideales, sería difícil aumentar el rendimiento de los cultivos mucho más allá de los niveles actuales”, señaló

Mark Tester, profesor del Consejo de investigación de Australia en la Universidad de Adelaide. “Con el enorme aumento de la población mundial en las ciudades de los países en desarrollo, es necesario que el incremento en la producción de alimentos ocurra en dichos países”, explicó. Según el profesor, “generalmente las condiciones de cultivo están lejos de ser las ideales. El mayor desafío es incrementar la producción sin aumentar el área de cultivo, y en condiciones de escasez de agua y empobrecimiento del suelo. El efecto devastador de la sequía y la salinidad en el ambiente y los agricultores puede verse en Australia. En sólo dos años la producción de trigo cayó de 24 a 9 millones de toneladas como resultado de la sequía.

*Los problemas de salinidad del suelo le cuesta a la industria triguera australiana U\$ 1,3 millones cada año”. El trabajo de investigación de Tester se centra en aumentar la tolerancia de los cultivos a la salinidad. “Hay plantas que pueden crecer en suelos salinos, pero la mayoría no. Estamos **identificando a los genes que hacen que las plantas puedan crecer en estas condiciones y los transferimos a las que no pueden hacerlo.** Estos genes deben provenir de plantas emparentadas con los cultivos a los que uno quiere transferir la nueva característica. En los grandes centros, como el Centro Australiano de Genómica Funcional Vegetal en la Universidad de Adelaide, hay ahora una masa crítica de investigadores que tienen la posibilidad de dar un paso adelante significativo en materia de ciencia y mejoramiento vegetal”, agregó el investigador.*

Hicieron germinar a una semilla que tiene más de 2.000 años

Científicos israelíes consiguieron hacer germinar a una semilla de palmera de dátiles de unos 2.000 años. Una de las investigadoras, Sarah Sallon, del Centro de Investigaciones en Medicina Natural Louis Borick en Jerusalén, señaló que emplearon semillas colectadas en una excavación arqueológica realizada en una antigua fortaleza del año 73 aC. La palmera tiene ahora 30 centímetros de alto, con hojas más largas que las hojas de la palmera de dátiles actual. Ahora están analizando el material genético de la palmera, para establecer su posición evolutiva respecto de las especies actuales. “Los dátiles tuvieron siempre muchas aplicaciones en la medicina tradicional, para el tratamiento de infecciones y tumores”, explicó Sallon. “Estamos buscando plantas medicinales, y creemos que las medicinas más antiguas podrían ser los medicamentos del futuro”, agregó. Sallon señaló también que antes que esta palmera, la semilla más antigua que se consiguió hacer germinar fue una semilla de loto de 1.200 años, en China.